

MÉRÉSEK TERMÉSZETES ANYAGOK L-ASZKORBINSAV-TARTALMÁNAK MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSÁRA KÁLIUM-FERRICIANID OLDATTAL, FOTOMETRIÁS KIÉRTÉKELÉSEL

DR. VÁMOS KÁROLYNÉ

Irodalmi adatok szerint az L-aszkorbinsav (továbbiakban AS) különböző módszerekkel történő meghatározása ugyanazon vizsgálati anyag esetében is viszonylag eltérő értékeket ad. Az eredmények összehasonlítása arra utal, hogy az AS mérési módszerek nem eléggé megbízhatóak.

Hamar N., Naszály E., Weber A. [1] néhány C-vitamin meghatározási módszer adatait biológiai úton is ellenőrizték tengerimalacokon. Megállapították, hogy bizonyos esetekben a jodometriás titrálás eredményeit kell elfogadni (pl. csipkebogyó esetében) a zöldborsó C-vitamin-tartalmát pedig a Tillmans-féle 2,6-dikórfenol-indofenol festékkoldattal való mérés, illetve az α , α' -dipiridiles színreakció tükrözi helyesen.

A különböző anyagok AS-tartalmának meghatározásával számos közlemény foglalkozik, a meghatározások nagy száma ellenére sincs a kérdés megnyugtató módon lezárva.

Az utóbbi időben ismertetett papír- és vékonyrétegekromatográfiás eljárással ugyan szelektíven lehet elválasztani a C-vitamint a zavaró anyagoktól, de igen hosszadalmas, ezért rutinvizsgálatokra kevésbé alkalmas, továbbá az oszazonfoltok félkvantitatív kiértékelése miatt az eredmények szórása igen nagy [2, 3].

A kísérleti módszerek — előbb már említett — biológiai felülbírálatra igazolja, hogy nem lehet egyértelműen elvetni az oxidimetriás meghatározásokat.

Kísérleteinkben az AS-t redukáló tulajdonságánál fogva határoztuk meg. A reagensoldat megválasztásánál arra törekedtünk, hogy a mérőoldatnak, mint redoxrendszernek közel essen a redoxpotenciálja a DAS/AS hasonló értékéhez. Így esett a választás a $K_4[Fe(CN)_6]/K_3[Fe(CN)_6]$ redoxpárra [4, 5].

Számértékileg:

$$DAS/AS \quad +0,36 \text{ V,}$$

$$K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6] + 0,45 \text{ V,}$$

$$J_2/J^- \quad +0,62 \text{ V.}$$

Az AS-nak kálium-ferri-cianiddal történő reakciója kálium-ferro-cianidot eredményez, mely $Fe(III)$ -ionokkal berlinikék színeződést mutat ($Fe_4[Fe(CN)_6]_3$). A kálium-ferri-cianid feleslegben alkalmazható, mivel ezen ionok jelenléte NaF adagolása mellett a színreakciót nem zavarja [6].

* Kémia Tanszék.

KÍSÉRLETI RÉSZ

1. Módszer elve

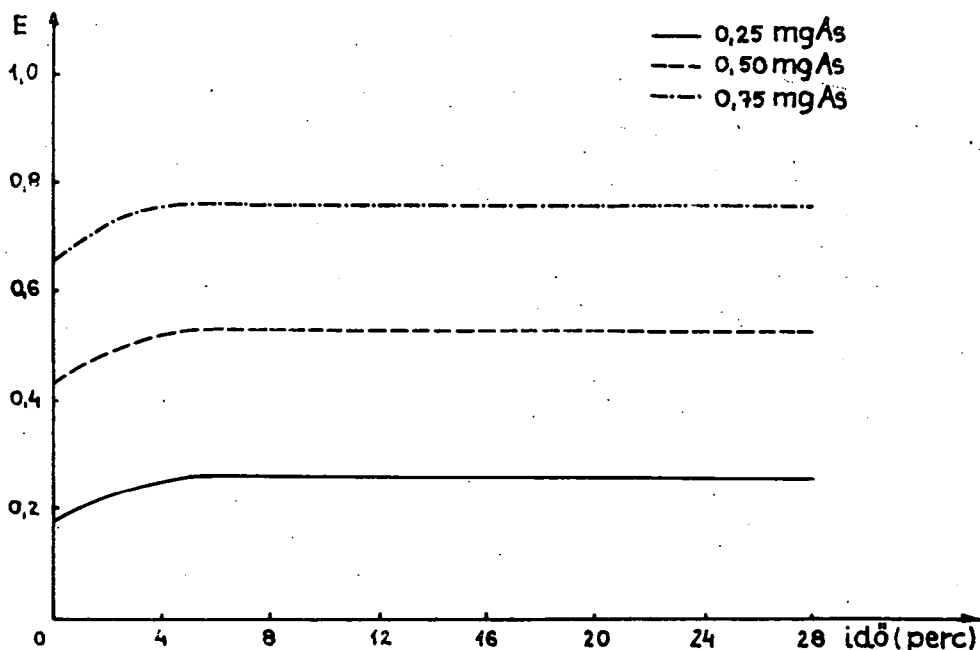
Az AS-tartalmú oldat aliquot részletéhez feleslegben kálium-ferri-cianid oldatot adunk. Ekkor a kálium-ferri-cianidnak AS-val arányos része kálium-ferro-cianiddá redukálódik. A feleslegben maradt ferri-cianid ionok lekötésére NaF-ot mérünk a rendszerhez, majd Fe(III)-ionokat a berlinikék színeződés kialakítására. Ennek színintenzitásából előzetesen felvett kalibrációs görbe alapján számítjuk az AS-tartalmat.

2. A reakciókörülmények pontos megválasztása, és a szinképződésre való hatása

Feladatul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk azokat a körülményeket, amelyek befolyásolják a színreakciót, továbbá tanulmányoztuk, hogyan lehet biztosítani az AS kvantitatív mérésének feltételeit.

Az előkísérlethez felhasznált oldatok:

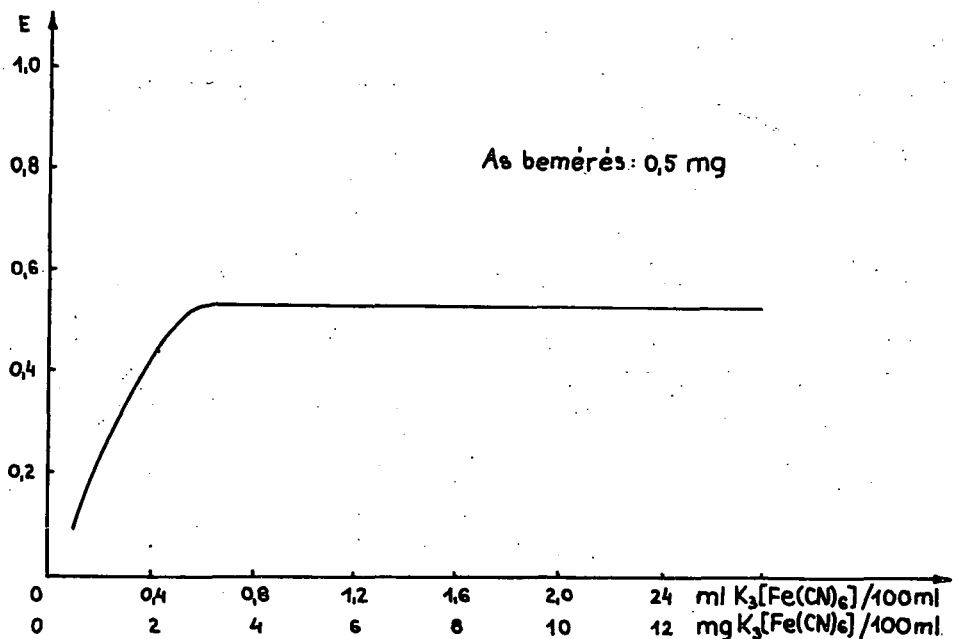
AS-oldat	25 mg%	(esetenként frissen készítve),
kálium-ferri-cianid-oldat	1%	(esetenként frissen készítve),
nátrium-fluorid-oldat	2%	
ferri-klorid-oldat	2%	



1. ábra. A színintenzitás időbeli alakulása (AS-bemérés: 0,25; 0,50; 0,75 mg)

Legelőször azt kellett eldönteni, hogy az alkalmazott kémszerek feleslege nem zavarja-e a színintenzitás alakulását. Ezzel kapcsolatos méréseink eredményét az 1—4. ábrákkal szemléltettjük.

Az 1. ábra a színintenzitás időbeli alakulását mutatja, amelyből látható, hogy az oldat színe 5 perc után állandóvá válik, tehát ennyi idő elteltével az extinkció reprodukálhatóan mérhető.



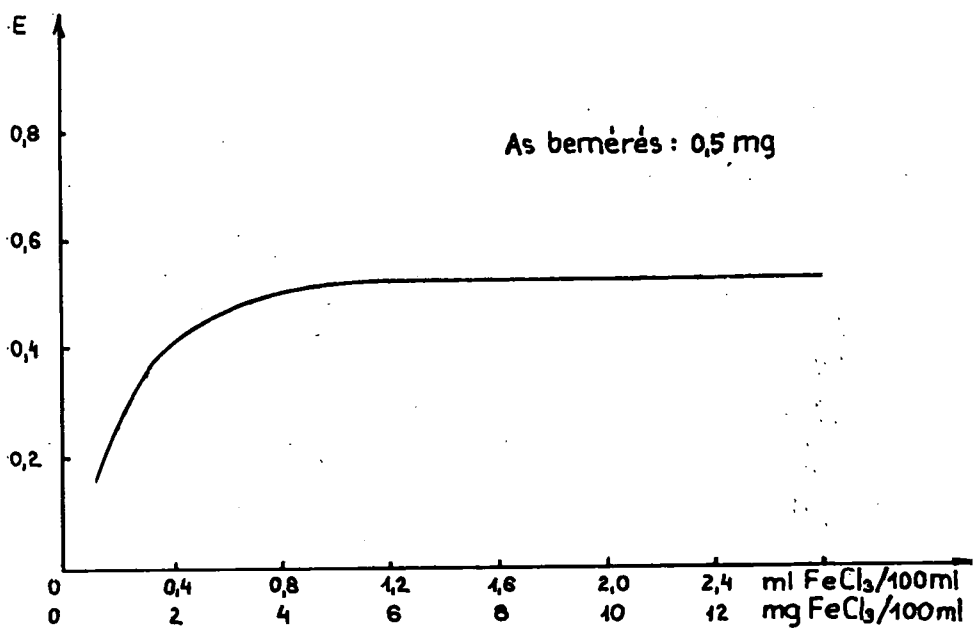
2. ábra. A kálium-ferri-cianid reagens változó mennyiségének hatása a színintenzitásra (AS-bemérés: 0,50 mg)

A továbbiakban a kálium-ferri-cianid, valamint a ferri-klorid növekvő mennyiségének függvényében vizsgáltuk az oldat extinkcióját, ugyanazon AS-tartalom mellett. Az idevonatkozó mérési eredményeket a 2. és 3. ábrákon mutatjuk be. Mindkét esetben kezdetben lineáris összefüggés figyelhető meg az adagolt kémszer és az oldat színintenzitása között. Ebben a szakaszban, feltehetően nincs elegendő reagens az AS teljes átalakításához, illetve a ferro-cianid ionok lekötéséhez, de megfelelő mennyiség bevitele után a színintenzitás állandóvá válik. Tehát a kémszerek feleslege nem zavar, és erről mindenképpen gondoskodni kell.

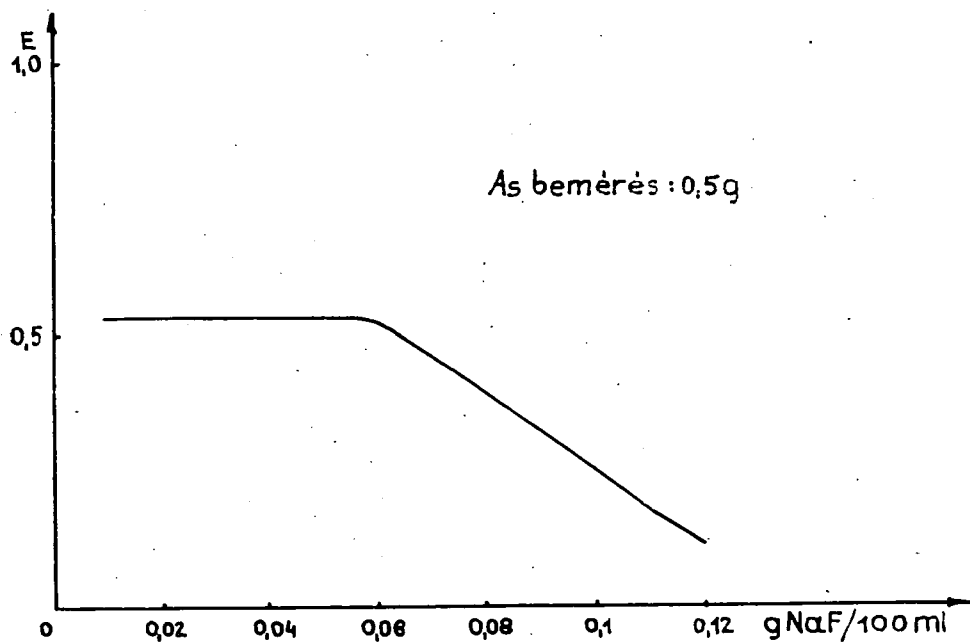
A 4. ábra a nátrium-fluorid változó mennyiségének hatását mutatja. Megállapítható, hogy ezen reagens mennyisége csak adott határok között ingadozhat, és hogy a reakcióelegyen maximálisan megengedhető koncentráció 0,05 g NaF/100 ml.

A továbbiakban különböző, az élelmiszerekben levő AS extrahálására használt anyagok hatását vizsgáltuk. Méréseink szerint az ecetsav, citromsav nem, az oxálsav és foszforsav a $Fe(III)$ -ionokkal való komplexképzés miatt zavarják a reakciót. Az utóbbi hatások kiküszöbölésével a későbbiekben kívánunk foglalkozni.

A berlinikék színreakció különböző intenzitással jelentkezik a pH értéktől függően. Tapasztalataink szerint a reakció $pH = 3-4$ között játszódik le optimálisan.



3. ábra. A ferri-klorid reagens változó mennyiségének hatása a színintenzitásra (AS-bemérés: 0,50 mg)



4. ábra. A nátrium-fluorid reagens változó mennyiségének hatása a színintenzitásra (AS-bemérés: 0,50 mg)

3. Meghatározás

3.1. Felhasználandó oldatok

Puffer oldat (egyben extrahálószer) $\text{pH} = 3,69$,
(0,1 mól nátrium-citrát; 0,1 n sósav (1:1)),
kálium-ferri-cianid: 1% (esetenként frissen készítve),
nátrium-fluorid: 2%,
ferri-klorid: 2%,
hitelesítő oldat: 20 mg%-os AS-oldat (esetenként frissen készítve).

3.2. A minta előkészítése a meghatározáshoz

A vizsgálati anyagból 15—25 g közötti mennyiséget — az AS-tartalomtól függetlenül — 10 g tengeri homokkal homogenizálunk, majd a puffer 25 milliliterével történő 10 perces zárt rendszerben való rázatás után szűrjük. Az így nyert extraktum 1—5 milliliterét használjuk fel a meghatározáshoz.

3.3. Eljárás

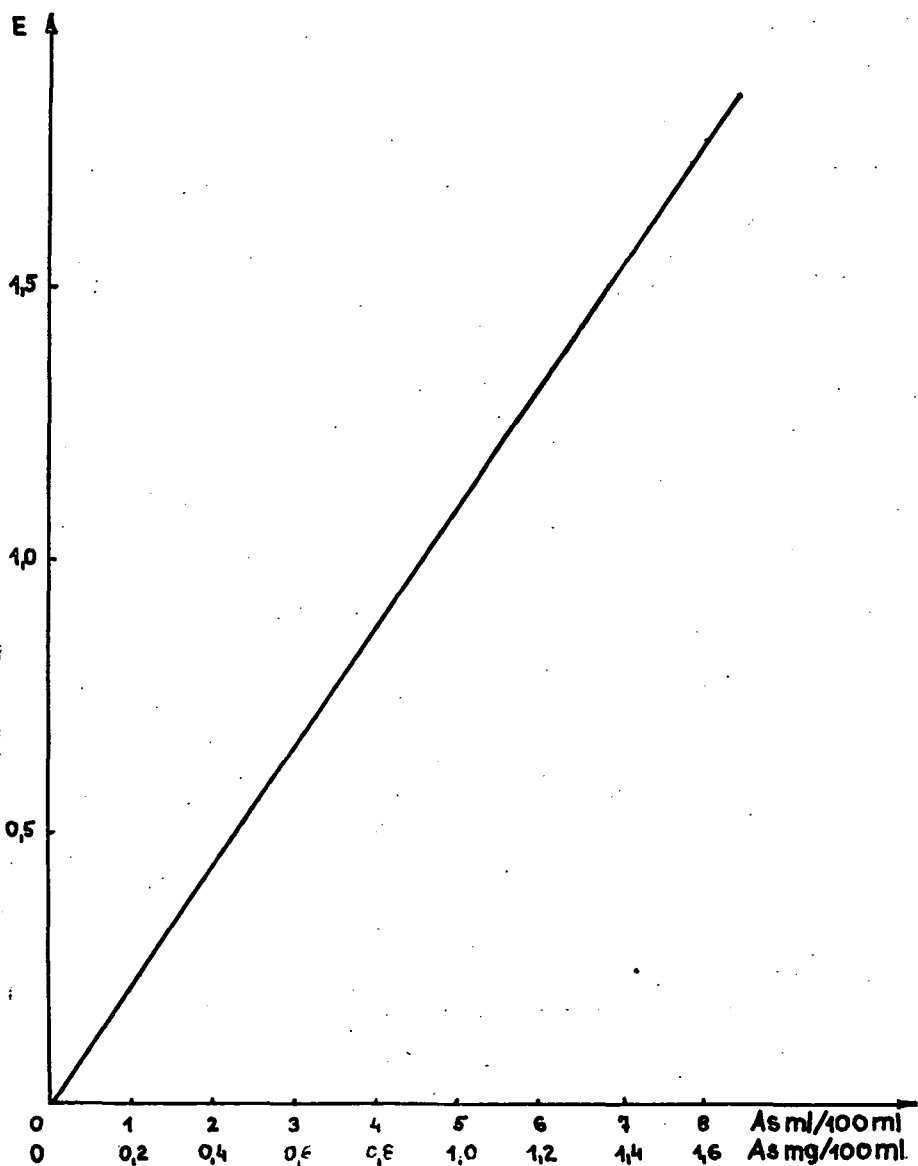
a) Standard:

- *színtelen anyagok mérése esetén:* 10 ml puffer, 1 ml kálium-ferri-cianid, 1 ml nátrium-fluorid, 2 ml ferri-klorid 100 milliliteres mérőlombikban jelig töltve, a fenti sorrendben;
- *színes anyagok mérése esetén:* 10 ml puffer, 1—5 ml AS-tartalmú kivonat (ugyanannyi mint a meghatározáshoz) — a kálium-ferri-cianid elmarad 1 ml nátrium-fluorid, 2 ml ferri-klorid 100 milliliteres mérőlombikban jelig töltve.

b) 100 milliliteres mérőlombikba először az AS-tartalmú kivonatot vesszük be, amelynek AS-tartalma 0,2—1,5 mg között lehet. 10 ml Puffer oldat hozzáadása után 1 ml kálium-ferri-cianid oldatot pipetázunk az elegybe, és az egészet jól összerázzuk. A reagens felesleget 1 ml nátrium-fluorid-oldattal lekötjük, kiegészítjük desztillált vízzel kb. 80—90 milliliterre, és csak ezután mérünk hozzá 2 ml ferri-kloridot. Jelig töltve 5 perc elteltével 710 nm-nél, 10 mm-es küvettákban mérjük az oldat extinkcióját a standarddal szemben.

3.4. Kalibrációs diagram készítése

- a) Standard: 10 ml puffer, 1 ml kálium-ferri-cianid, 1 ml nátrium-fluorid, 2 ml ferri-klorid 100 milliliteres mérőlombikban jelig töltve.
- b) 20 mg%-os AS-oldatból 100 milliliteres mérőlombikba 1, 2, 3,...8 millilitert kipipetázunk, a megadott eljárás szerint elvégezzük a meghatározást. Az oldat extinkcióját a standarddal szemben mérjük.



5. ábra. Kalibrációs görbe AS mennyiségi meghatározására kálium-ferri-cianid-oldattal, fotometriás kiértékeléssel

A kalibrációs diagram az oldatok extinkciója és a mg-ban kifejezett AS-tartalom közötti összefüggést adja meg. Méréseink szerint az 1. táblázatban feltüntetett adatokat kaptuk.

Méréseinket Spektromom 201 fotométerrel végeztük. Az adatokból szerkesztett kalibrációs görbét az 5. ábra szemlélteti.

1. táblázat

Kalibrációs mérések AS mennyiségi meghatározására
kálium-ferri-cianid-oldattal,
fotometriás kiértékeléssel

Felhasznált AS-oldat, ml	AS mg	Extinkció
1,00	0,2	0,215
2,00	0,4	0,430
3,00	0,6	0,650
4,00	0,8	0,855
5,00	1,0	1,070
6,00	1,2	1,300
7,00	1,4	1,510
8,00	1,6	1,720

4. Egyes gyümölcs- és zöldségfélék AS-tartalmának alakulása kálium-ferri-cianidos
eljárással

A vizsgálandó anyag AS-tartalmának meghatározására a 3.2. pontban részletezett módon kivonatot készítettünk. A továbbiakban az extraktum 1—5 milliliterét használtuk fel a meghatározáshoz. Az AS-koncentrációt a kalibrációs diagram figyelembevételével számítottuk, majd a kapott értékekből megadtuk a vizsgált minta AS-tartalmát mg%-ban az eredeti anyagra vonatkoztatva.

Az egyes gyümölcs- és zöldségfélék AS-tartalmára vonatkozó méréseink eredményét a 2. táblázatban közöljük.

2. táblázat

L—AS-tartalom gyümölcs- és zöldségfélékben
kálium-ferri-cianidos eljárással

Anyag	AS mg %	Anyag	As mg %
I. Kelkáposzta	12,5	II. Sárgadinnye	30,5
	12,1		30,0
	12,5		32,5
	12,0		30,1
	12,5		31,0
	11,5		31,2
	11,6		29,0
	12,5		29,0
	12,2		31,0
Átlag	12,1	Átlag	30,5
Szórás	0,30	Szórás	1,08
Relatív %-os hiba	0,83	Relatív %-os hiba	1,18

Anyag	AS mg %	Anyag	AS mg %
III. Őszibarack	18,5	IV. Alma	17,5
	18,0		17,0
	18,5		17,2
	18,5		17,3
	18,0		17,7
	17,3		18,2
	19,0		18,0
	17,8		18,5
	17,0		17,7
Átlag	18,0	Átlag	17,7
Szórás	0,60	Szórás	0,45
Relatív %-os hiba	1,11	Relatív %-os hiba	0,88
V. Paradicsom	21,3	VI. Zöldpaprika	210,0
	22,0		210,0
	21,3		205,0
	22,0		208,0
	20,0		215,0
	21,0		215,0
	22,5		216,0
	20,8		218,0
	21,0		209,0
Átlag	21,3	Átlag	211,7
Szórás	0,67	Szórás	4,58
Relatív %-os hiba	1,03	Relatív %-os hiba	0,79
VII. Szőlő	14,0	VIII. Citromlé	100,0
	14,0		100,0
	14,5		98,0
	14,0		96,0
	14,5		103,0
	13,8		95,0
	13,5		101,0
	14,0		100,0
	14,2		98,0
Átlag	14,0	Átlag	99,0
Szórás	0,30	Szórás	2,35
Relatív %-os hiba	0,71	Relatív %-os hiba	0,79

Anyag	AS mg%	Anyag	AS mg%
IX. Paradicsomlé	5,0	X. Pritamin	180,0
	4,5		182,0
	5,0		180,0
	5,0		182,0
	4,5		179,0
	5,4		181,0
	5,0		186,0
	4,9		183,0
	5,0		175,0
Átlag	5,0	Átlag	180,0
Szórás	0,31	Szórás	2,98
Relatív %-os hiba	2,00	Relatív %-os hiba	0,55

A módszer pontosságát AS adagolásával ellenőrizzük. Minden vizsgált mintához párhuzamosan ismert mennyiségű AS-t adtunk, és a meghatározást így is elvégeztük. A két mérés közötti eltérés egyetlen esetben sem volt számottevő.

Tapasztalataink szerint a meghatározás tíz perc alatt elvégezhető, a kivonat előkészítésével együtt is csak 30 percet vesz igénybe.

Véleményünk szerint a módszer gyorsaságára és kielégítő pontosságára való tekintettel sorozatvizsgálatokra alkalmas, ez esetben az egy vizsgálatra eső meghatározási idő még lényegesen lecsökken.

IRODALOM

1. Hamar N.—Naszályi E.—Weber A.: Egészségtudomány 4, 235, (1957).
2. Szőke Szotyori K.: Die Nahrung 11, 139, (1967).
3. Petro O.-né: ÉVIKE 14, 234, (1968).
4. Erdey L.: Bevezetés a kémiai analízisbe. Térfogatos analízis. Tankönyvkiadó, Bp. 1962.
5. A. Berka—J. Vulterin—J. Zyka: Massanalytische oxydations- und reduktionsmethoden. Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig, 1964.
6. Erdey L.: Bevezetés a kémiai analízisbe. Minőségi kémiai analízis. Magyar Természettudományi Társulat, Bp. 1945.

ИЗМЕРЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ Л-АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ПРИРОДНЫХ МАТЕРИАЛАХ С ПОМОЩЬЮ РАСТВОРА ФЕРРИЦИАНИД КАЛИЯ ФОТОМЕТРИЧЕСКИМ СПОСОБОМ

Др. Каройнэ Вамош—Эва Кардош

В наших исследованиях содержания Л-аскорбиновой кислоты определялись её восстановительными свойствами с помощью феррицианид калия, потенциал редокса которой находится близко к соответствующему значению DAS/AS

Полученный при реакции ферроцианид калий с ионами железа (III) даёт цвет берлиновой лазуры, интенсивность спектра которого по нашим измерениям пропорционально количеству участвующей в реакции аскорбиновой кислоты.

Далее изучались действие условий реакции на установление цвета, а также условия качественного определения аскорбиновой кислоты.

Использовали разработанную нами методику для определения содержания L-аскорбиновой кислоты в природных материалах. По нашему мнению данный метод пригоден при серийных анализах, т. к. достаточно прост и точен.

QUANTITATIVE SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF L-ASCORBIC ACID IN NATURAL SUBSTANCES BY MEANS OF POTASSIUM FERRICYANIDE

Éva Kardos-Vámos

Use was made of the reducing properties of L-ascorbic acid for its determination with potassium ferricyanide, the redox potential of which is very close to the corresponding value for DAA/AA. The potassium ferrocyanide formed in the reaction was reacted with iron (III) ions to give Prussian blue, and it was found that the absorption of the resulting solution was proportional to the amount of ascorbic acid taken. A study was made of the effect of the reaction conditions on the development of the colour, and hence a method was elaborated for the quantitative determination of ascorbic acid. This was used to determine L-ascorbic acid in natural substances. As regards speed and accuracy the method is suitable for serial examinations.

MESSUNGEN ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DES L-ASKORBINSÄUREGEHALTES NATÜRLICHER STOFFE MIT KALIUMFERRIZYANIDLÖSUNG UND PHOTOMETRISCHER AUSWERTUNG

Von

Frau Dr. K. Vámos Éva Kardos

Es wurde die L-Ascorbinsäure aufgrund ihrer reduzierenden Eigenschaft mit Kaliumferrizyanid-Reagens bestimmt, dessen Redoxpotential dem der DAS/AS sehr nahekommt. Das in der Reaktion entstehende Kaliumferrizyanid gibt mit Eisen (III)-Ionen eine Berlinerblau-Färbung, deren Farbintensität sich als proportional der eingetragenen Ascorbinsäuremenge erwies. Im weiteren wurde der Einfluss der Reaktionsumstände auf die Farbtongestaltung sowie die Bedingungen der quantitativen Ascorbinsäuremessung bestimmt.

Angewandt wurde das von den Verff. ausgearbeitete Verfahren zur Bestimmung des L-Ascorbinsäuregehaltes in natürlichen Stoffen.

In Anbetracht ihrer Schnelligkeit und hinreichenden Genauigkeit wird die Methode auch als für Reihenuntersuchungen geeignet erachtet.